

**UJI ANTIINFLAMASI ASAM 2-(3-
KLOROMETIL)BENZOILOKSI)BENZOAT PADA
TIKUS WISTAR JANTAN YANG DIINDUKSI
LIPOPOLISAKARIDA DENGAN PARAMETER
LEUKOSIT DAN SUHU TUBUH**



IGNASIUS AGYO PALMADO

2443015041

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2019

**UJI ANTIINFLAMASI ASAM 2-(3-
KLOROMETIL)BENZOILOKSI)BENZOAT PADA TIKUS *WISTAR*
JANTAN YANG DIINDUKSI LIPOPOLISAKARIDA DENGAN
PARAMETER LEUKOSIT DAN SUHU TUBUH**

SKRIPSI

- Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

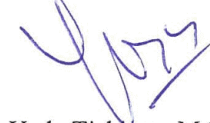
OLEH :
IGNASIUS AGYO PALMADO
2443015041

Telah disetujui pada tanggal 9 Desember 2019 dan dinyatakan LULUS

Pembimbing I,


Catherine Caroline S.s.i., Msi., Apt
NIK. 241.00.0444

Pembimbing II,


Yudy Tjahjono, M.Sc., Biol
NIK. 241.16.0921

Mengetahui,
Ketua Penguji



(Dra. Siti Surdijati, MS., Apt.)
NIK. 241.14.0807

LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya, dengan judul : **Uji Antiinflamasi senyawa Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat pada tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida dengan parameter leukosit dan suhu tubuh** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta. Demikian Pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.



Surabaya, 2020

Ignasius Agyo Palmado
2443015041

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.



Surabaya, 2020

Ignasius Agyo Palmado

2443015041

ABSTRAK

UJI ANTIINFLAMASI ASAM 2-(3-KLOROMETIL)BENZOILOKSI)BENZOAT PADA TIKUS *WISTAR* JANTAN YANG DIINDUKSI LIPOPOLISAKARIDA DENGAN PARAMETER LEUKOSIT DAN SUHU TUBUH

IGNASIUS AGYO PALMADO
2443015041

Asam 2-(3-klorometil)benzoiloksi)benzoat adalah senyawa turunan asam asetil salisilat yang memiliki efek antiinflamasi. Penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi pada model tikus yang diberi senyawa penginduksi inflamasi. Pengamatan parameter inflamasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah leukosit dan suhu tubuh. Senyawa induksi inflamasi yang digunakan dalam penelitian adalah *lipopolysaccharide* yang dapat menyebabkan inflamasi ditandai dengan terjadinya demam dan naiknya jumlah leukosit. Metode penelitian yang akan dilakukan yaitu pemberian senyawa penginduksi inflamasi *lipopolysaccharide* dosis 500 µg/kg BB pada tikus dilanjutkan pemberian senyawa asam 2-(3-klorometil)benzoiloksi)benzoat pada jam ke satu dan ke enam. Kelompok perlakuan yang akan digunakan dibagi menjadi 4 yaitu kontrol negatif yang ekuivalen dengan tikus sehat, kontrol positif yang tidak mendapat obat untuk melihat efek senyawa induksi, kontrol positif asam asetil salisilat dengan perlakuan diberi senyawa induksi kemudian asam asetil salisilat dan kelompok senyawa uji dengan perlakuan diberi senyawa induksi kemudian senyawa asam 2-(3-klorometil)benzoiloksi)benzoat. Pengamatan pada parameter suhu akan dilakukan dengan interval setiap satu jam selama sepuluh jam pengamatan. Tikus kemudian akan dibiarkan hingga dua puluh empat jam dan dibedah untuk pengambilan sampel darah leukosit. Hasil penelitian terlihat aktivitas antiinflamasi pada kelompok asam asetil salisilat dan asam 2-(3-klorometil)benzoiloksi)benzoat karena mampu menstabilkan suhu tikus dan menurunkan jumlah leukosit. Sebagai kesimpulan senyawa asam 2-(3-klorometil) benzoiloksi)benzoat memiliki aktivitas farmakologi sebagai antiinflamasi.

Kata kunci: Asam 2-(3-klorometil)benzoiloksi)benzoat, Suhu tubuh, Leukosit, Antiinflamasi, *Lipopolysaccharide*

ABSTRACT

ANTIINFLAMATION TEST OF 2-(3-CHLOROMETHYL)BENZOYLOXY)BENZOIC ACID IN LIPOPOLYSACCHARIDE – INDUCED MALE WISTAR RATS USING LEUCOCYTE AND BODY TEMPERATURE AS PARAMETERS

**IGNASIUS AGYO PALMADO
2443015041**

2-(3-chloromethyl)benzoyloxy)benzoic acid is a derivative of acetyl salicylic acid which has an anti-inflammatory effect. The research carried out aims to determine the antiinflammatory effects in mouse models that are given an inflammatory-inducing composition. Observation of inflammatory parameters conducted in this study were leukocytes and body temperature. The inflammatory compound used in this study is lipopolysaccharide which can cause inflammation which is characterized by increased fever and increased number of leukocytes. The research method that will be carried out is the administration of lipopolysaccharide-inducing inflammatory compound dose 500 µg/kg BW in mice that require the composition of 2-(3-chloromethyl)benzoyloxy)benzoic at one and six hours. The rats will be divided into 4 groups negative controls equivalent to healthy mice, positive controls that do not get the drug to see the effect of induction compound, positive control of acetyl salicylic acid with induction compounds then given acetic acid salicylic acid and 2-(3-chloromethyl)benzoyloxy)benzoic group with induction compounds then given 2-(3-chloromethyl)benzoyloxy)benzoic. Observations on temperature will be made at every one hour for ten hours of observation. The rat will then be left for twenty-four hours and dissected to take a blood sample of leukocytes. The results of the study showed anti-inflammatory activity in the group of acetyl salicylic acid and 2-(3-chloromethyl)benzoyloxy)benzoic acid because it was able to stabilize the temperature of the rat and reduce the number of leukocytes. In conclusion, the composition of 2-(3-chloromethyl)benzoyloxy)benzoic acid has pharmacological activity as an antiinflammatory.

Keywords: 2-(3-chloromethylbenzoyloxy)benzoic acid, Body Temperature, Leukocyte, Antiinflammatory, Lipopolysaccharide

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan karunianya, sehingga skripsi dengan judul **Uji Antiinflamasi senyawa Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat pada tikus wistar jantan yang diinduksi lipopolisakarida dengan parameter leukosit dan suhu tubuh** dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses pembuatan naskah skripsi ini:

1. Catherine Caroline, S.Si, Msi., Apt. sebagai Pembimbing I yang telah memberikan ilmu untuk menyelesaikan skripsi ini dan semangat dalam proses penyelesaian skripsi.
2. Yudy Tjahjono, B.Sc, M.Sc.Biol., sebagai Pembimbing II yang telah memberikan ilmu untuk menyelesaikan skripsi ini dan semangat dalam proses penyelesaian skripsi.
3. Dra. Siti Surdijati, MS., Apt. dan Iyonne Soeliono M.Farm.Klin., Apt. selaku dosen Penguji I dan Penguji II yang telah memberikan saran dan masukan pada skripsi ini.
4. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi yang sudah memberikan banyak sekali ilmu pengetahuan.
5. Para petugas laboratorium yaitu bapak Dwi, bapak Rendy dan segenap petugas laboran yang telah membantu memfasilitasi alat dan ruangan selama proses penelitian.
6. Kepada kedua orang tua (Agustinus Balu dan Yovita Nanik Srikandi) dan adik (Eleonora Helen Paska Nona) yang selalu memberikan semangat dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

7. Teman-teman 2016 (Yongky Novandi, Effendy Anggara, Arnold Sulistio Cionander, Wiska Stephanie Tjjali, Helen Kristiana Budi Agung, Desy Natalia, Giovanni dan Made) yang telah bersama-sama untuk meluangkan waktu dan tenaga dalam menyelesaikan proyek ini hingga selesai.
8. Teman-teman angkatan (Meidy Christanti, Christine Kusuma, Alde Baran, Ramadhona dan Benny Kristian) yang telah memberikan bantuan dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian skripsi.
9. *Team liquid* (Jason Eldwin, Johan Roy Herianto, Rufus Bayu Yulianto, Yermia Gunawan dan Samuel Handoyo) atas dukungannya dalam keberhasilan penulis menyelesaikan skripsi.

Dengan keterbatasan pengalaman, pengetahuan maupun pustaka yang ditinjau, penulis menyadari kekurangan dalam penulisan naskah Skripsi ini. Akhir kata penulis sangat mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
BAB I : PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang Penelitian.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tunjuan penelitian	3
1.4 Hipotesis Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II : TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Asam asetil salisilat	5
2.2 Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benxoat	7
2.3 Lipopolisakarida dan sinyal kaskade dalam tubuh	9
2.4 Pengaruh lipopolisakarida terhadap suhu tubuh	12
2.5 Pengaruh lipopolisakarida terhadap leukosit	16
2.5.1 Granulosit	17
2.5.2 Monosit	18
2.5.3 Limfosit	19
BAB III : METODOLOGI PENELITIAN	22

	Halaman
3.1 Bahan dan alat penelitian.....	22
3.1.1 Bahan penelitian	22
3.1.2 Alat penelitian	24
3.1.2 Hewan coba	25
3.2 Metode penelitian	27
3.2.1 Skema rancangan penelitian	27
3.2.2 Skema kerangka konsep uji antiinflamasi	28
3.2.3 Skema kerja uji antiinflamasi	28
3.3 Tahapan penelitian.....	30
3.3.1 Sintesis senyawa asam 2-(3-(klorometil) benzoiloksi) benzoat	30
3.3.2 Uji kemurnian senyawa asam 2-(3-(klorometil) benzoiloksi) benzoat.....	30
a. Kromatografi lapis tipis	30
b. Uji titik leleh.....	31
3.4 Tahapan uji antiinflamasi	31
3.4.1 Pemberian lipopolisakarida	31
3.4.2 Pemberian senyawa uji.....	32
3.4.3 Prosedur pengamatan profil leukosit	34
3.5 Variabel penelitian.....	36
3.6 Analisa statistik	37
3.7 Hipotesa statistik	37
BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Kemurnian senyawa	38
4.1.1 Kromatografi lapis tipis	38
4.1.2 Titik leleh	39
4.2 Pengukuran suhu	40

	Halaman
4.2.1 Pengamatan suhu	41
4.3 Pengukuran leukosit	42
4.3.1 Hasil uji granulosit	44
4.3.2 Hasil uji monosit	45
4.3.3 Hasil uji limfosit.....	45
4.3 Pembahasan.....	46
BAB V : KESIMPULAN DAN SARAN	55
DAFTAR PUSTAKA	56
LAMPIRAN	63

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Bahan Penelitian	22
Tabel 3.2 Alat penelitian	24
Tabel 3.3 Pembuatan larutan AAS dan Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat	33
Tabel 3.4 Konversi ke berat badan tikus	33
Tabel 4.1 Harga Rf Senyawa Asam 2-(3-(klorometil)benzoiloksi)benzoat	39
Tabel 4.2 Hasil pengamatan rentang titik leleh.....	40

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur kimia asam salisilat	5
Gambar 2.2 Mekanisme OAINS pada biosintesis.....	6
Gambar 2.3 Struktur asam 2-(3-(klorometil)benzoioksi)benzoat .	7
Gambar 2.4 Skema kaskade sinyal dari LPS.....	12
Gambar 2.5 Hasil pengujian induksi LPS terhadap tikus wistar	14
Gambar 2.6 Hasil pengujian efek AAS terhadap tikus wistar yang mendapat induksi LPS	15
Gambar 2.7 Hasil pengamatan induksi LPS terhadap tikus wistar	17
Gambar 3.1 Skema rancangan Penelitian.....	27
Gambar 3.2 Skema kerangka konsep penelitian	28
Gambar 3.3 Skema uji perubahan suhu dan leukosit	29
Gambar 3.4 Pemberian lipopolisakarida	32
Gambar 3.5 Pemberian senyawa uji.....	34
Gambar 3.6 Prosedur pengamatan profil leukosit	36
Gambar 4.1 Pengamatan kromatografi lapis tipis	38
Gambar 4.2 Hasil uji suhu.....	42
Gambar 4.3 Hasil uji leukosit	43
Gambar 4.4 Hasil uji granulosit	44
Gambar 4.5 Hasil uji monosit	45
Gambar 4.6 Hasil uji limfosit.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A Sertifikat Tikus	64
Lampiran B Sertifikat Senyawa Induksi Lipopolisakarida.....	65
Lampiran C Hasil Pengamatan Suhu Tubuh	66
Lampiran D Hasil Statistik Pengamatan Suhu Tubuh	68
Lampiran E Hasil Pengamatan Leukosit	73
Lampiran F Hasil Statistik Pengamatan Leukosit	74

DAFTAR SINGKATAN

3KM	: Asam 2-(3-(Klorometil)Benzoiloksi)Benzoat
AAS	: Asam Asetil Salisilat
AP1	: <i>Activator Protein 1</i>
APC	: <i>Antigen-Presenting Cell</i>
C5aR	: Reseptor C5a
CD14	: <i>Cluster Of Differentiation 14</i>
CMC	: <i>Carboxymethyl Cellulose</i>
COX	: Siklooksigenase
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDTA	: <i>Ethylenediaminetetraacetic</i>
ED ₅₀	: <i>Effective Dose 50</i>
G-CSF	: <i>Granulocyte Colony Stimulating Factor</i>
GM-CSF	: <i>Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor</i>
IKK β	: <i>IκB Kinase β</i>
IL-1 β	: <i>Interleukin-1β</i>
IL-1R	: <i>Interleukin-1 Receptor</i>
IL-12	: <i>Interleukin-12</i>
IL-4	: <i>Interleukin-14</i>
IRAK4	: <i>Interleukin-1 Receptor Associated Kinase 4</i>
JNK	: <i>C-Jun-NH₂ Terminal Kinase</i>
LPS	: Lipopolisakarida
MyD88	: <i>Myeloid Differentiation Primary Response 88</i>
NO-AAS	: 3-Nitrooxyphenyl asetil salisilat
NONO-AAS	: O ² -(asetilsalisiklometil)-1-(pirolidin-1-yl) diazen-1-ium-1,2-diolate

OAINS	: Obat Anti Inflamasi Non Steroid
PAMPs	: <i>Pathogen Associated Molecular Patterns</i>
PG	: Prostaglandin
TAK1	: <i>Transforming Growth Factor Beta-Activated Kinase 1</i>
Th1	: T helper sel-1
Th2	: T helper sel-2
TLR4	: <i>Toll Like Receptor 4</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
TNFR	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor</i>
TRAF6	: <i>Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Factor 6</i>
WBC	: <i>White Blood Cell</i>